

УДК 547.68;57.084.1

ВРЕМЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИАРЕНОВ В ОБРАЗЦАХ СЕЗОННО–ТАЛОГО СЛОЯ ТУНДРОВЫХ ТОРФЯНИКОВ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

© 2022 г. Е. В. Яковлева*, @, Д. Н. Габов*

*Институт биологии Федерального исследовательского центра Коми научного центра
Уральского отделения РАН, ул. Коммунистическая, 28, Сыктывкар, 167982 Россия

@E-mail: kaleeva@ib.komisc.ru

Поступила в редакцию 21.01.2021 г.

После доработки 16.02.2022 г.

Принята к публикации 09.03.2022 г.

Проведен модельный эксперимент по разложению органического вещества торфа сезонно-талого слоя тундрового торфяника побережья Баренцева моря. Полученные данные свидетельствуют о постоянном варьировании состава полициклических ароматических углеводов в течение эксперимента. Изменения содержания полициклических ароматических углеводов могут быть описаны синусоидальной кривой с несколькими максимумами и минимумами. Предположительно, наличие экстремумов содержания полициклических ароматических углеводов и перекомбинации их состава в ходе эксперимента объясняется тем, что в отсутствие легкодоступных для разложения легких углеводов микроорганизмы начинали разлагать более тяжелые структуры, а при снижении их содержания – высокомолекулярные органические вещества торфа.

Ключевые слова: модельный эксперимент, торфяники, органическое вещество, полициклические ароматические углеводороды, разложение

DOI: 10.31857/S1026347022050213

Химический состав торфа является результатом комбинации химического состава тканей болотных растений и микроорганизмов, почвенных вод и вторичных веществ, образующихся при его разложении (Bozkurt *et al.*, 2001). В значительных количествах в составе торфа присутствуют полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) – органические соединения бензольного ряда, которые могут иметь как природное, так и антропогенное происхождение. Они являются суперэтоксикантами (Brien *et al.*, 2016; Ren *et al.*, 2017; Cheng *et al.*, 2019; Yakovleva, Gabov, 2019), с одной стороны, и необходимыми органическими компонентами для растений с другой.

Высокая химическая устойчивость ПАУ в сочетании с кислой и анаэробной средой торфяной залежи препятствует их деградации. Низкая водорастворимость полиаренов также увеличивает их сорбцию почвенными частицами и ограничивает доступность для микробиологического разложения (Пастухов и др., 2017). Показано, что с увеличением длительности пребывания ПАУ в почвах их экстракционная способность, разлагаемость и токсичность уменьшаются (Wilcke, 2000; Thuens *et al.*, 2013). Модельный эксперимент по разложению 10 ПАУ в аэробных и анаэробных условиях в

торфе показал, что их содержание в течение 3 лет не изменялось от исходного уровня (Thuens *et al.*, 2013).

ПАУ могут образовываться из более сложных высокомолекулярных органических соединений, присутствовавших в торфе: лигнина, пентациклических терпенов, структур с диеновыми или полиеновыми связями в алифатических углеводородных цепях, липидов (Орлов, 1990; Wilcke, 2000; Яковлева и др. 2008, 2015).

Исследование шестнадцати гуминовых кислот и одной фракции гумина, выделенных из торфяной почвы на содержание ПАУ показали, что гумин является основным поглотителем ПАУ в почве, благодаря высоко-конденсированной физической структуре и большому количеству алифатических углеродных цепей. Авторы связывают с этим фактом устойчивость и слабую биоразлагаемость ПАУ в торфяниках (Chen *et al.*, 2017). Более прочные связи между ПАУ и гумином, по сравнению с гуминовыми и фульвокислотами, выявили и другие исследователи. Показано, что связи между гуминами и ПАУ были более прочными для низкомолекулярных 2–3 ядерных ПАУ, чем для высокомолекулярных 4–6 ядерных полиаренов. Это обусловлено более высокой подвиж-

ностью и более легкой диффузией легких ПАУ в стабильные фракции почвенного органического вещества, по сравнению с тяжелыми ПАУ (Ukalska-Jaruga *et al.*, 2019).

Модельный эксперимент по разложению сфагновой подстилки в течение 120 дней позволил установить, что легкие ПАУ могут быть поглощены растворимыми углеводами в сфагновом помете, тогда как тяжелые полиарены были связаны с другими фракциями органического вещества. Выявлены значимые положительные корреляции между легкими ПАУ и общим органическим углеродом (ТОС). Что свидетельствует о том, что при разложении растворимого органического вещества, высвободившиеся ПАУ легко подвергались микробиологическому разложению. Отрицательная корреляция между содержанием фульвокислот и концентрацией ПАУ, по мнению авторов, может объясняться влиянием фульвокислот на деградацию ПАУ за счет увеличения их биодоступности (Wang *et al.*, 2018).

Другие исследования показали влияние уровня влажности на степень разложения гуминовых кислот и гумина антарктических почв. Как показано соотношением алкил С/О-алкил С (при использовании данного соотношения), степень разложения данных веществ была выше при высоком уровне влажности (Carvalho *et al.*, 2013). Сходные данные были получены в 180-дневном лабораторном инкубационном эксперименте по разложению гуминовых веществ при разных уровнях влажности (Li *et al.*, 2016). Также авторами установлено, что гуминовые кислоты антарктических почв менее устойчивы к разложению по сравнению с почвами других регионов (Carvalho *et al.*, 2010). Влажность образцов в эксперименте была довольно высока и составляла $88.4 \pm 0.9\%$. Торф сформирован в холодных условиях Арктики, и, вероятно, гуминовые кислоты, также были хорошо подвержены разложению. Данные факторы были благоприятным для разложения органических веществ, ведущего к новообразованию ПАУ в торфе. Так как гуминовые кислоты арктических регионов менее устойчивы к деградации, а повышенная влажность торфа выступала как дополнительный фактор их более интенсивного разложения.

На основании корреляционного и дисперсионного анализов была показана достоверная взаимосвязь между степенью ароматичности фульво- и гуминовых кислот и содержанием тяжелых полиаренов в разных слоях торфа (Габов и др., 2017).

Одним из источников образования ПАУ в торфе может быть разрушение лигнина. В природе наиболее эффективную биодеградацию лигнина осуществляют базидиомицеты, принадлежащие к группе грибов белой гнили, такие как *Ceriporiopsis subverispora* (Pilát) Gilb. & Ryvarden, *Phlebia* spp., *Physisporinus rivulosus* (Berk. & M.A. Curtis) и *Di-*

chomitus squalens (P. Karst.) D.A. Reid. (Феофилова и др., 2016). Грибы белой гнили осуществляют полный распад лигнина благодаря способности расколоть С α -С β , β -арил, С1-С α связи, включая ароматические (Janusza *et al.*, 2013). Из-за уникальной способности неспецифических окислительных ферментов вступать в реакцию с различными ароматическими субстратами, грибы белой гнили являются наиболее эффективными деструкторами гумусовых соединений. Известно, что из-за крупного размера макромолекулы гумусовых веществ не могут проникать внутрь клеток микроорганизмов, поэтому процесс их биоразложения протекает под действием внеклеточных ферментов (Huang *et al.*, 2013; Дину, Губернаторова, 2013). Установлено, что грибы белой гнили способны разлагать и ПАУ (Koschorreck *et al.*, 2008; Никифорова и др., 2010; Cao *et al.*, 2020). Грибы, как и микроорганизмы, разлагают полиарены посредством последовательного гидроксирования ароматических колец (Елин, 2001; Byss *et al.*, 2008). В результате последовательного разложения ПАУ могут разрушиться до соединений бензола, а затем и до простых веществ углерода и водорода (рис. 1).

Грибы являются основой микробиологических сообществ северных территорий (Хабибуллина и др., 2012; Власов и др., 2014, 2018). Канадскими учеными, на основании модельного эксперимента по влиянию потепления на микробиоту бореальных торфяников, показано, что изменения в функциональных группах грибов зависели от температуры (Asemaninejada *et al.*, 2018). Так, грибы потенциально способные разлагать целлюлозу доминировали при +4°C, тогда как при температуре +8°C преобладали потенциально разлагающие лигноцеллюлозу грибы. Авторы утверждают, что в процессе потепления происходит сдвиг в составе грибкового сообщества в пользу разлагателей более устойчивых соединений углерода (таких как лигнин).

Эксперимент по потеплению в бореальном лесу Аляски и изучению изменения распространенности грибковых таксонов подтвердил, что, в целом, вызванные потеплением сдвиги в грибковых сообществах могут сопровождаться их повышенной способностью разрушать лигнин (Treseder *et al.*, 2016). Другими авторами получены данные о том, что повышение температуры инкубации привело к повышению уровня минерализуемого углерода в антарктических почвах (Carvalho, 2010, 2013).

В современных условиях глобальных климатических изменений приводящих к потеплению в северных регионах, особый интерес приобретает изучение влияния процессов потепления на органическое вещество, законсервированное в тундровых торфяниках.

Целью данной работы было оценить временные изменения содержания полиаренов в образ-

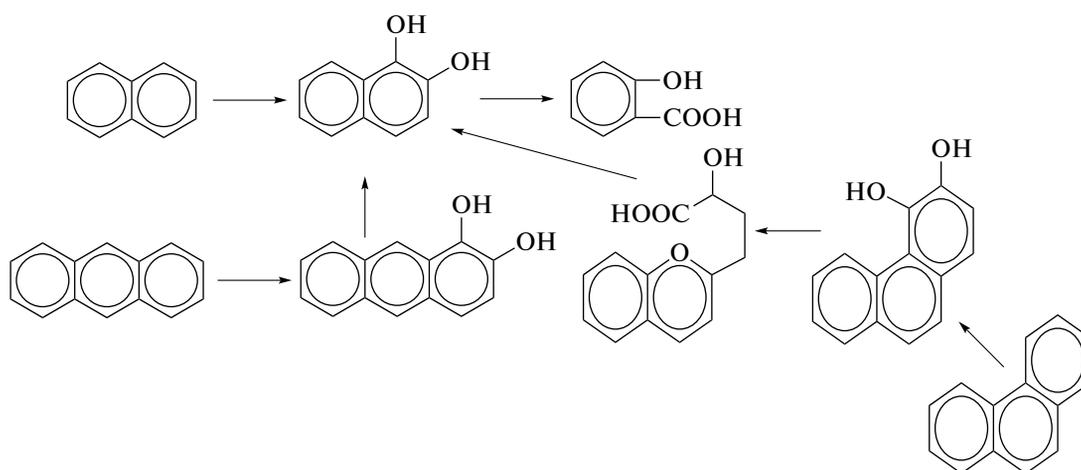


Рис. 1. Окисление полиаренов по Е.С. Елину, 2001.

цах сезонно-талого слоя тундровых торфяников в условиях модельного эксперимента с повышением температуры, моделирующим естественное потепление.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экперимент по разложению органических веществ сезонно-талого слоя тундровых торфяников был проведен на образце торфа сезонно-талого слоя, отобранного в августе 2018 г. на побережье Баренцева моря. Образец был заморожен, а 30 апреля 2019 г. была произведена разморозка образца в стерильных условиях. 1 мая 2019 г. образец был тщательно перемешан и размещен в стерильные виалы из темного стекла объемом 30 см³. Образец набивался в виалы и тщательно утрамбовывался, чтобы ограничить поступление воздуха. С целью соблюдения стерильности эксперимента и предотвращения попадания привнесенной микробиоты из воздуха виалы тщательно закупоривали. Для этого использовали заворачивающиеся крышки, которыми закрывали виалы, наглухо обматывали восковой лентой. Закладку эксперимента проводили в стерильных условиях, чтобы избежать попадания микроорганизмов извне. Виалы помещали в холодную комнату с температурой $5 \pm 1^\circ\text{C}$ без попадания света. Данные условия, по нашему мнению, соответствовали естественным условиям разморозки торфа при возможном потеплении климата. Каждый месяц 3 пробы эксперимента доставали из холодной комнаты, высушивали в течение 2 дней при комнатной температуре, измельчали и проводили химический анализ на содержание 16 ПАУ. На первом этапе также были отобраны и проанализированы 3 пробы торфа. Эксперимент проводили в течение года с мая 2019 по май 2020 г. Всего было проанализировано 39 проб торфа.

Химико-аналитические исследования торфа выполняли в ЦКП “Хроматография” Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН. Для извлечения ПАУ из почв и растений использовали систему ускоренной экстракции растворителями ASE-350 (“Dionex Corporation”, США). Пробу торфа массой 1 г помещали в экстракционную ячейку и трижды экстрагировали смесью хлористый метилен : ацетон (1 : 1) при температуре 100°C. Затем экстракты концентрировали с применением аппарата Кудерна–Даниша при температуре в термостате 70°C и заменяли растворитель на гексан. Полученный концентрат пробы объемом 3 см³ очищали от неорганических примесей методом колоночной хроматографии с использованием оксида алюминия II степени активности по Брокману. В качестве элюэнта использовали 50 см³ смеси гексан : хлористый метилен (4 : 1). Элюат концентрировали с применением аппарата Кудерна–Даниша при температуре в термостате 85°C до объема 5 см³, затем добавляли 3 см³ ацетонитрила и упаривали при температуре 90°C до полного удаления гексана. Концентрат пробы в ацетонитриле анализировали на содержание ПАУ методом ВЭЖХ (Yakovleva, Gabov, 2019). Контроль точности результатов измерений проводили с использованием стандартного Standard Reference Material 1944 “New York/New Jersey Waterway Sediment” (National Institute of Standards & Technology, USA) для почв. Статистическая обработка результатов проведена с использованием программного пакета Statistica 6.1. Данные были обработаны в трехкратной повторности для каждой стадии эксперимента. Рассчитано среднее значение и его стандартное отклонение. Статистическую обработку для оценки достоверности расхождений средних данных проводили при помощи *t*-критерия Стьюдента, $P = 0.95$.

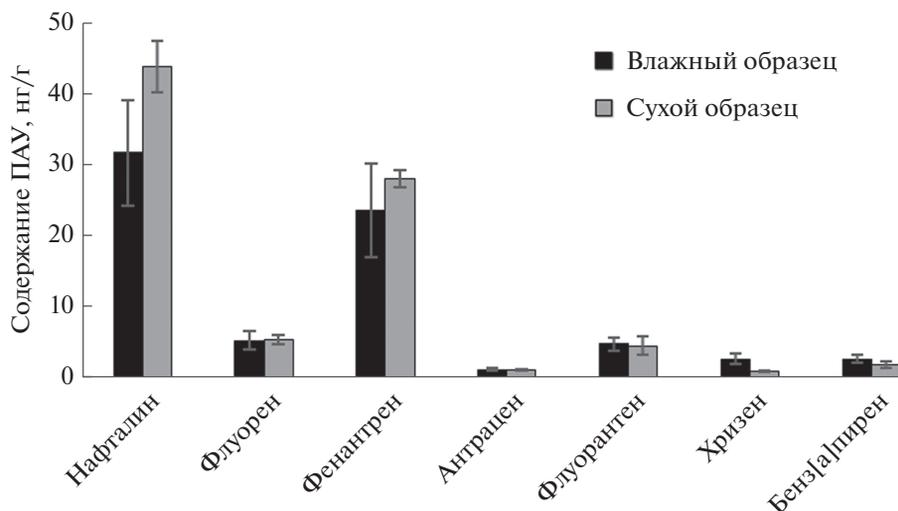


Рис. 2. Содержание ПАУ в сухом и влажном образце в начале эксперимента, нг/г.

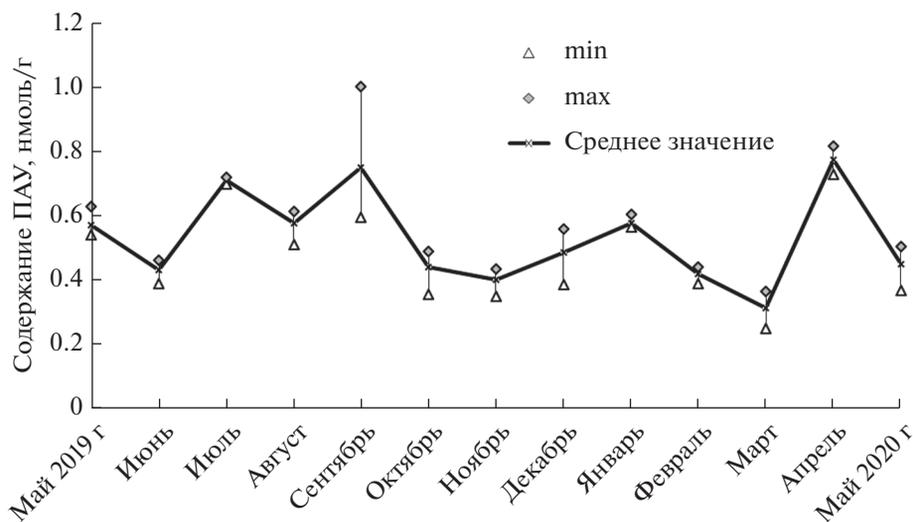


Рис. 3. Суммарное содержание ПАУ в течение эксперимента, нмоль/г.

Подбор условий проведения эксперимента. На первом этапе была определена возможность использования для анализа торфа сухих и влажных образцов (рис. 2). Данные по влажным образцам даны в пересчете на сухой вес. Результаты опыта показали, что, в целом, в сухих и влажных образцах обнаруживаются одни и те же структуры полиаренов, отклонения входят в пределы рассчитанной погрешности полученных значений. Использование влажных образцов приводит к занижению результатов содержания в пробе нафталина и фенантрена. Мы связываем этот факт с тем, что наличие воды в пробе приводит к снижению эффективности экстракции органических веществ, за счет эффекта обволакивания. Влажные пробы характеризуются большей вариативностью результатов

по сравнению с сухими. Данный момент связан с неравномерностью распределения жидкости в пробе, что также искажает результаты анализа. В связи с полученными результатами, для получения данных в ходе эксперимента мы использовали сухие образцы торфа.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Следует отметить, что в процессе эксперимента мы наблюдали постоянные изменения в содержании ПАУ, которые могут быть описаны синусоидальной кривой с несколькими максимумами и минимумами (рис. 3).

Достоверность расхождений суммарного количества ПАУ ходе эксперимента представлена в

Таблица 1. Статистический анализ, *t*-критерий Стьюдента

F-ratio	Май 2019	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь	Декабрь	Январь	Февраль	Март	Апрель	Май 2020
Май 2019	1.0	1.8	19.5	1.3	18.7	2.1	1.3	3.2	5.3	3.8	1.3	1.3	1.8
Июнь	1.8	1.0	10.8	2.3	33.8	3.8	1.4	5.7	2.9	2.1	2.4	1.4	3.3
Июль	19.5	10.8	1.0	25.3	365.0	41.4	15.4	61.6	3.7	5.2	26.0	14.8	36.0
Август	1.3	2.3	25.3	1.0	14.4	1.6	1.6	2.4	6.8	4.9	1.0	1.7	1.4
Сентябрь	18.7	33.8	365.0	14.4	1.0	8.8	23.7	5.9	98.4	70.6	14.1	24.7	10.2
Октябрь	2.1	3.8	41.4	1.6	8.8	1.0	2.7	1.5	11.2	8.0	1.6	2.8	1.2
Ноябрь	1.3	1.4	15.4	1.6	23.7	2.7	1.0	4.0	4.2	3.0	1.7	1.0	2.3
Декабрь	3.2	5.7	61.6	2.4	5.9	1.5	4.0	1.0	16.6	11.9	2.4	4.2	1.7
Январь	5.3	2.9	3.7	6.8	98.4	11.2	4.2	16.6	1.0	1.4	7.0	4.0	9.7
Февраль	3.8	2.1	5.2	4.9	70.6	8.0	3.0	11.9	1.4	1.0	5.0	2.9	7.0
Март	1.3	2.4	26.0	1.0	14.1	1.6	1.7	2.4	7.0	5.0	1.0	1.8	1.4
Апрель	1.3	1.4	14.8	1.7	24.7	2.8	1.0	4.2	4.0	2.9	1.8	1.0	2.4
Май 2020	1.8	3.3	36.0	1.4	10.2	1.2	2.3	1.7	9.7	7.0	1.4	2.4	1.0

Примечание. Значимые отклонения выделены жирным шрифтом.

табл. 1. Парно анализировались различия в суммарном содержании ПАУ между разными месяцами, на основании этого оценивалась достоверность прироста или убыли суммы ПАУ в данном месяце по сравнению с предыдущим и, при необходимости, с другими месяцами.

В течение месяца происходили изменения в составе ПАУ, содержание полиаренов статистически значимо понизилось в июне от исходного уровня. Еще через месяц в июле мы наблюдали статистически значимое повышение содержания суммарного содержания полиаренов, по сравнению как с июнем, так и с исходным уровнем. В августе выявлено очередное снижение содержания ПАУ, статистически значимое относительно июля и статистически не значимое по сравнению с исходным уровнем. Дальнейшие колебания количества ПАУ в сентябре также присутствовали, но были статистически не значимы. В ноябре происходило статистически значимое снижение содержания полиаренов в пробах модельного эксперимента по сравнению с исходным уровнем, июлем и августом. Затем происходило плавное повышение количества ПАУ, которое было статистически значимо только в январе. С февраля вновь наблюдали статистически значимое снижение содержания ПАУ с минимумом в марте. В апреле выявлен резкий статистически значимый рост количества ПАУ. В мае 2020 г. содержание ПАУ начинало статистически значимо снижаться.

Аналогично изменениям общего содержания полиаренов, изменялась количество нафталина (табл. 2). Вероятно, это связано с тем, что доля

нафталина от суммарного содержания ПАУ в торфе составляла 46–74% на разных этапах проведения эксперимента. Количество флуорена, фенантрена, флуорантена и антрацена изменялась сходным образом, но был выявлен дополнительный максимум его накопления в ноябре, когда для общего содержания ПАУ и нафталина выявлен минимум. Для хризена получены сходные данные с фенантrenom, но с ноября до конца эксперимента его содержание почти не изменялось, в мае 2020 г. хризен не был обнаружен в торфе. Пирен в начале эксперимента в торфе отсутствовал и появлялся только в октябре, в ноябре отмечен минимум его накопления, а далее планомерный рост. Сходные закономерности выявлены и для тяжелых ПАУ. Суммарная доля тяжелых полиаренов в начале эксперимента составляла 1.5%, но закономерно возрастала со временем, к концу эксперимента достигая 11.5%.

Это обеспечивалось приростом содержания разных индивидуальных структур: в октябре наблюдали количественный максимум бенз[k]флуорантена, в декабре бенз[a]пирена и бенз[ghi]перилена, в январе бенз[b]флуорантена, в феврале и апреле бенз[k]флуорантена и дибенз[a,h]антрацена, в мае 2020 года бенз[b]флуорантена и бенз[a]пирена. Такой факт может быть связан с тем, что разные структуры ПАУ могут быть связаны с разными фракциями органического вещества (Wang *et al.*, 2018).

Таблица 2. Содержание индивидуальных ПАУ в течение эксперимента, нмоль/г

ПАУ	Май 2019		Июнь		Июль		Август		Сентябрь		Октябрь		Ноябрь		Декабрь		Январь		Февраль		Март		Апрель		Май 2020		
	\bar{X}	$S\bar{X}$	\bar{X}																								
Нафталин	0.343	0.028	0.322	0.027	0.426	0.036	0.417	0.036	0.505	0.090	0.296	0.034	0.184	0.013	0.308	0.042	0.345	0.031	0.227	0.021	0.154	0.056	0.434	0.029	0.198	0.025	
Флуорен	0.032	0.004	0.017	0.003	0.063	0.006	0.023	0.005	0.048	0.010	0.014	0.003	0.020	0.002	0.016	0.002	0.017	0.001	0.018	0.002	0.009	0.002	0.031	0.002	0.023	0.002	
Фенантрен	0.158	0.007	0.057	0.003	0.127	0.005	0.099	0.009	0.144	0.043	0.080	0.007	0.131	0.013	0.085	0.008	0.123	0.015	0.092	0.016	0.086	0.009	0.202	0.014	0.137	0.014	
Антрацен	0.006	0.001	0.000	0.000	0.004	0.001	0.006	0.004	0.008	0.004	0.003	0.000	0.007	0.001	0.004	0.001	0.005	0.001	0.006	0.001	0.002	0.000	0.010	0.001	0.005	0.002	
Флуорантен	0.022	0.007	0.022	0.002	0.022	0.002	0.014	0.008	0.019	0.007	0.014	0.004	0.027	0.004	0.020	0.002	0.024	0.006	0.018	0.004	0.013	0.004	0.025	0.000	0.030	0.006	
Пирен	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009	0.005	0.000	0.000	0.018	0.007	0.024	0.003	0.012	0.002	0.011	0.001	0.014	0.003	0.012	0.005	
Бенз[а]антрацен	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004	0.003	0.003	0.002	0.001	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004	0.002	
Хризен	0.004	0.000	0.007	0.003	0.029	0.033	0.006	0.007	0.007	0.001	0.002	0.001	0.006	0.000	0.003	0.000	0.004	0.000	0.004	0.001	0.002	0.001	0.003	0.001	0.000	0.000	
Бенз[б]флуорантен	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006	0.002	
Бенз[к]флуорантен	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.003	0.001	0.001	0.001	0.000	0.001	0.000	0.002	0.001	0.002	0.000	0.005	0.001	0.002	0.001	
Бенз[а]пирен	0.007	0.002	0.007	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.003	0.003	0.003	0.002	0.002	0.010	0.002	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.001	
Дибенз[а,h]антрацен	0.000	0.000	0.000	0.000	0.024	0.002	0.010	0.009	0.016	0.001	0.022	0.010	0.018	0.008	0.004	0.000	0.028	0.004	0.041	0.001	0.034	0.005	0.050	0.008	0.029	0.015	
Бенз[ghi]перилен	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
Сумма ПАУ	0.571	0.036	0.432	0.027	0.709	0.008	0.576	0.041	0.750	0.155	0.442	0.403	0.403	0.032	0.485	0.063	0.578	0.016	0.420	0.018	0.313	0.041	0.773	0.031	0.450	0.048	

Примечание. \bar{X} – среднее значение, $S\bar{X}$ – стандартное отклонение.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В мае на начальной стадии эксперимента в торфе обнаружено 7 структур ПАУ: нафталин, флуорен, фенантрен, антрацен, флуорантен, хризен и бенз[а]пирен. Другими авторами показано, что аценафтен, флуорен, пирен, дибенз [a, h] антрацен, нафталин и бенз [ghi] перилен имеют в основном биопедогенное происхождение и образуются в восстановительных условиях в заболоченных горизонтах почв (Atanassova, Brummer, 2004). Статистически значимое снижение суммарного количества через месяц могло быть связано с активизацией микробиоты торфа в условиях повышения температуры до $+5 \pm 1^\circ\text{C}$, которая приводила к разрушению полиаренов торфа флуорена, фенантрена до нафталина, при этом избыточные количества нафталина, вероятно, также разлагались до неорганических соединений (Елин, 2001; Byss *et al.*, 2008; O'Brien *et al.*, 2013), что вело к снижению его содержания и общему значимому снижению количества ПАУ в торфе. Также в торфе отмечено снижение содержания бенз[а]пирена, который, по-видимому, разрушался до хризена, молярная доля которого увеличилась.

Китайскими исследователями также была показана обратная зависимость содержания 2–3 ядерных и 5–6 ядерных ПАУ в эксперименте по разложению сфагновой подстилки. Это свидетельствовало о возможности разрушения тяжелых полиаренов до более легких структур (Wang *et al.*, 2018). Возможность образования 2, 3, 4-ядерных ПАУ из 5-ядерного бенз[а]пирена продемонстрировано и другими исследованиями, проведенными на основании 2-летнего эксперимента по разрушению бенз[а]пирена (Minkina *et al.*, 2020).

В июле мы наблюдали статистически значимое повышение количества ПАУ, связанное с 2–4 кратным возрастанием содержания флуорена, фенантрена и хризена и появлением новообразованных тяжелых структур дибенз[a,h]антрацена и бенз[ghi]перилена, которые могли образоваться из высокомолекулярных органических молекул лигнина, терпенов, гуминовых кислот в процессе микробиологического разложения. Тяжелые структуры под действием микробиоты могли частично разрушаться, что и приводило к выше описанному дополнительному приросту легких ПАУ. С полным разложением может быть связано отсутствие бенз[а]пирена в торфе на данном этапе эксперимента.

На основании модельного эксперимента по разложению органических веществ тропических торфяных почв, показано, что изменения ферментативной кинетики определяют оптимальную стратегию кормодобывания, которая указывает на то, что микроорганизмы будут максимизиро-

вать свои усилия по добыванию пищи в направлении получения ограничивающих питательных веществ, уравнивая распределение ресурсов для неограничивающих питательных веществ (Sih *et al.*, 2019).

В нашем случае, в отсутствии легкодоступных для разложения легких ароматических углеводов микроорганизмы начинали разлагать более тяжелые структуры ПАУ, а при снижении их содержания высокомолекулярные органические вещества торфа.

К данному предположению склоняются и другие авторы, показывая, что незначительная скорость разложения тяжелых ПАУ в течение 0–30 дней модельного эксперимента, возможно, была связана с первоначальным потреблением микробиоты из других источников углерода, таких, например, как более легкие фракции общих нефтяных углеводородов (Vasconcelos *et al.*, 2011). Некоторая цикличность изменения содержания ПАУ также была показана, в модельном эксперименте по разложению сфагновой подстилки. В первые 40 дней эксперимента разложению подвергались преимущественно легкие структуры ПАУ, с 60 по 120 день стало снижаться содержание тяжелых структур (Wang *et al.*, 2018).

Дальнейшее статистически значимое снижение количества ПАУ в августе сопровождалось 2–5 кратным снижением содержания, флуорена, хризена и дибенз[a,h]антрацена в меньшей степени других ПАУ. Бенз[ghi]перилен был полностью подвергнут микробиологическому разложению. Незначительный рост содержания наблюдали лишь для антрацена. На данном этапе деятельности микробиоты, по-видимому, была направлена на использование имеющихся полиаренов, высокомолекулярные органические вещества торфа слабо подвергались разложению. Было выявлено образование в торфе незначительных количеств бенз[k]флуорантена.

Следующий этап сентября был связан с незначительным и статистически не значимым приростом всех полиаренов за исключением бенз[k]флуорантена, количество которого немного снижалась. В целом, это приводило к незначимому повышению суммарного содержания ПАУ. 1.5 кратный прирост дибенз[a,h]антрацена и появление в торфе бенз[а]пирена говорило о новом этапе разрушения высокомолекулярных органических веществ торфа. Предполагается, что лигнин является основным источником органического вещества почвы, особенно конденсированных ароматических молекул (DiDonato, 2016). О повышении активности лигнина разлагающей микробиоты при повышении температуры выше $+4^\circ\text{C}$ упоминают и другие авторы (Treseder *et al.*, 2016; Asemaninejada *et al.*, 2018). По данным Головацкой и Никоновой (2013) скорость разложения торфообразующих

растений в течение года колеблется от 3% для мхов до 72% для травянистых растений. В нашем исследовании интенсивное разложение растительных остатков торфа может быть причиной деструкции лигнина с последующим образованием высокомолекулярных структур ПАУ. Волокнистые грибы, такие как базидиомицеты белой гнили, могут разлагать почвенные биополимеры подобные лигнину и гумусовым соединениям (Grinhut *et al.*, 2007; Janusza *et al.*, 2013; Дину, Губернаторова, 2013). В деструкцию лигнина вовлекается ряд внеклеточных ферментов, действие которых ведет к образованию неустойчивых соединений (например, фенокси- и карбокси-радикалов), которые затем подвергаются конденсации или полимеризации, что является процессом гумификации (Дину, Губернаторова, 2013). При этом лигнинолитические ферменты грибов, такие как лакказы, лигниновая пероксидаза и Mn-зависимая пероксидаза способны разрушать и ПАУ (Hamdi *et al.*, 2007). Деградация ПАУ в почве грибами белой гнили была ранее продемонстрирована многими исследователями (Canet *et al.*, 2001; Anderson *et al.*, 2003; Novotny *et al.*, 2004; Никифорова и др., 2010; Cao *et al.*, 2020)

В октябре мы наблюдали статистически незначимое снижение как суммарного количества ПАУ, так и содержания всех индивидуальных структур, за исключением дибенз[a,h]антрацена, содержание которого возрастало в 1.3 раза. Таким образом, как и в случае августа, нами было выявлено переключение микробной биомассы на преимущественное разложение более простых компонентов почвенного органического вещества.

Тренд снижения количества ПАУ продолжился и в ноябре. Снижение было статистически незначимым. Данный факт был обусловлен тем, что в процессе активного микробиологического разложения уменьшалась лишь количество нафталина, разлагавшегося до неорганики, бенз[a]пирена и дибенз[a,h]антрацена, при преобразовании которых синтезировались более легкие 3–4 ядерные структуры, содержание которых, наоборот, возрастало. Исследования показали, что в процессе деструкции лигнина возможна дальнейшая деградация органических веществ с последующей минерализацией (Grinhut *et al.*, 2007; O'Brien *et al.*, 2013; Дину, Губернаторова, 2013).

В декабре мы наблюдали статистически незначимый рост количества ПАУ за счет нафталина и бенз[a]пирена. Нафталин, по-видимому, образовывался из 3–4 ядерных структур ПАУ, доля которых в торфе снижалась. Источником бенз[a]пирена, количество которого возросло в 6 раз, могли быть процессы разложения высокомолекулярных органических веществ торфа, на разрушение которых была направлена деятельность микробиоты.

Статистически незначимый рост количества ПАУ в торфе продолжался и в январе. При этом происходило разрушение бенз[a]пирена, его содержание снижалось в 8 раз, при этом доля легких структур незначительно возрастала. Отмечался резкий прирост дибенз[a,h]антрацена в 6 раз. Одновременно шли процессы разрушения микроорганизмами тяжелых структур ПАУ и более высокомолекулярных веществ.

В феврале суммарное количество ПАУ статистически значимо снижалось, что было обусловлено снижением количества легких структур: нафталина, фенантрена, флуорантена, пирена. При этом незначительно возрастало содержание бенз[k]флуорантена, продолжался рост содержания дибенз[a,h]антрацена. Микроорганизмы, при недостатке низкомолекулярных структур, начинали разрушать высокомолекулярную органику. Ранее нами (Yakovleva *et al.*, 2020) и другими исследователями (Berset *et al.*, 2001) в природных условиях была показана обратная зависимость в накоплении легких и тяжелых структур ПАУ. Пик накопления бенз[ghi]перилена в слоях торфа был принят индикатором активного разложения лигнина остатков травянистых растений. Пик повышения массовой доли нафталина свидетельствовал о том, что в данном горизонте идут процессы расщепления тяжелых ПАУ до более легких структур.

В марте отмечено снижение количества всех ПАУ, что приводило к статистически значимому снижению их суммарного содержания до значений октября и ноября. В данном месяце было выявлено минимальное содержание ПАУ в торфе. Микроорганизмы активно разрушали синтезированные полиарены.

После минимума наблюдаемого в марте, в апреле проявлялся пиковый рост количества всех полиаренов. Прирост был статистически значим. Суммарное содержание ПАУ возрастало в 2.5 раз по сравнению со значениями марта. Основной прирост происходит за счет 2–3 ядерных структур: нафталина, фенантрена, флуорена, антрацена. Идет активное вовлечение почвенной органики в процессы функционирования микробиоты сопровождающееся новообразованием ПАУ, деятельность микроорганизмов направлена на разрушение высокомолекулярных органических соединений и тяжелых структур ПАУ.

На конечной стадии эксперимента в мае 2020 г. выявлено статистически значимое снижение содержания ПАУ до значений ноября. Образованные в апреле нафталин, фенантрен, флуорен, антрацен разлагаются, по-видимому, до бензольных или простых соединений. Тяжелые полиарены бенз[k]флуорантен и дибенз[a,h]антрацен, количество которых также убывало, могли разлагаться с образованием флуорантена, прирост которого мы

наблюдали в данный период. При этом появляются бенз[b]флуорантен и бенз[a]пирен, не обнаруженные в торфе с января, что свидетельствует о включении очередного цикла микробного разложения высокомолекулярной органики (гуминовых кислот, терпенов, лигнина, почвенных липидов и др.)

Значения содержания ПАУ в конце эксперимента (май 2020) близки к начальным значениям (май 2019), отклонения статистически не значимы. При этом происходит перекомбинация качественного состава ПАУ, выраженная в снижении содержания легких структур ПАУ и повышение количества высокомолекулярных ПАУ в конце эксперимента. Данный факт подтверждает необходимость ежемесячного контроля содержания ПАУ в эксперименте, который позволил отследить статистически значимые изменения происходящие в составе ПАУ торфа, в том числе связанные с процессами разложения высокомолекулярной органики. Эксперименты с измерением содержания ПАУ раз в полгода не позволили выявить значимых изменений в составе ПАУ (Thuens *et al.*, 2013). По-видимому, определенный баланс ПАУ, как необходимых питательных веществ для организмов, постоянно поддерживается в системе.

Таким образом, в ходе эксперимента мы наблюдали циклические изменения содержания ПАУ, обусловленные переключением почвенной микробиоты с активного разложения полиаренов на разрушение высокомолекулярных соединений почвы: молекул лигнина, терпенов, гуминовых кислот и т.д. Следует отметить, что синусоидальная кривая растягивалась в течение эксперимента. Если в начале эксперимента количественные минимумы и максимумы ПАУ сменяли друг друга ежемесячно, то к концу эксперимента для таких изменений требовалось уже два месяца. Возможно, такой эффект связан со стабилизацией микробного сообщества, которое на начальных этапах эксперимента, в связи с размораживанием, находилось в экстремальных условиях.

* * *

Исследование временных изменений ПАУ в условиях модельного эксперимента по разрушению торфа сезонно-талого слоя позволило выявить циклические изменения в составе полиаренов, описываемые синусоидальной кривой с несколькими максимумами и минимумами. Мы предполагаем, что подобные изменения могли быть связаны с изменениями кормовой стратегии почвенной микробиоты, которая использовала в качестве источника энергии сначала низкомолекулярную органику в виде ПАУ, а при снижении их содержания в торфе активизировала ферменты, направленные на разрушение высокомолекулярных органических веществ лигнина, гумино-

вых кислот и т.д. Для подтверждения данной гипотезы необходимо проведение исследования ферментативной активности, которое является целью наших дальнейших исследований.

Выявленный эффект растягивания синусоидальной кривой к концу эксперимента, вероятно, связан со стабилизацией микробного сообщества, которое на начальных этапах эксперимента, в связи с размораживанием, находилось в экстремальных условиях.

Выход на исходные значения суммарного количества ПАУ к концу эксперимента, при наличии значимых экстремумов в течении года, свидетельствовал об существовании определенного баланса ПАУ в системе торфяного образца. Полученные данные подтвердили необходимость ежемесячного отслеживания изменений содержания ПАУ в подобных модельных экспериментах.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке госбюджетной темы ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН № ЕГИСУ 122040600023-8.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Власов Д.Ю., Абакумов Е.В., Томашунас В.М., Крыленков В.А., Зеленская М.С. Микобиота почв и антропогенных субстратов полуострова Ямал // Гигиена и санитария. 2014. Т. 93. № 5. С. 49–51.
- Власов Д.Ю., Кирицели И., Крыленков В.А., Баранцевич Е.П., Соколов В.Т. Сравнительное исследование аэромикоты арктических станций по Северному морскому пути // Экология человека. 2018. № 4. С. 16–21.
- Габов Д.Н., Василевич Р.С., Яковлева Е.В., Зуева О.М. Ароматические соединения в бугристых торфяниках криолитозоны // Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. Геокриология. 2017. № 6. С. 15–29.
- Головацкая Е.А., Никонова Л.Г. Разложение растительных остатков в торфяных почвах олиготрофных болот // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. Т. 3. № 23. С. 137–151.
- Дину М.И., Губернаторова Т.Н. Основные пути разложения и трансформации гумусовых веществ почв под воздействием живых организмов // Вестник Тюменского государственного университета. 2013. № 12. С. 50–56.
- Елин Е.С. Фенольные соединения в биосфере. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. 392 с.
- Никифорова С.В., Позднякова Н.Н., Макаров О.Е., Чернышова М.П., Турковская О.В. Биоконверсия хризана грибом белой гнили *Pleurotus ostreatus* D1 // Микробиология. 2010. Т. 79. № 4. С. 481–485.
- Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1990. 325 с.
- Пастухов А.В., Каверин Д.А., Габов Д.Н. Полициклические ароматические углеводороды в мерзлотных бугристых торфяниках на европейском северо-востоке // Почвоведение. 2017. № 7. С. 814–823. [Pas-

- tukhov A.V., Kaverin D.A., Gabov D.N.* Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Cryogenic Peat Plateaus of Northeastern Europe // *Eurasian Soil Science*. 2017. V. 50. № 7. P. 805–813].
- Феофилова Е.П., Мысякина И.С.* Лигнин: химическое строение, биодеградация, практическое использование // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2016. Т. 52. № 6. С. 559–569.
- Хабибуллина Ф.М., Виноградова Ю.А., Дегтева С.В., Лантева Е.М.* Специфика формирования комплекса микромицетов в почвах островной поймы реки Ильич // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2012. Т. 14. № 1–8. С. 2082–2086.
- Яковлева Е.В., Безносиков В.А., Кондратенко Б.М., Габов Д.Н.* Биоаккумуляция полициклических ароматических углеводородов в системе почва – растение // *Агрохимия*. 2008. № 9. С. 66–74.
- Яковлева Е.В., Габов Д.Н., Безносиков В.А.* Влияние различных доз бенза[а]пирена на состав полициклических ароматических углеводородов в песчаной культуре // *Агрохимия*. 2015. № 6. С. 90–96.
- Andersson B.E., Lundstedt S., Tornberg K., Schnurer Y., Oberg L.G., Mattiasson B.* Incomplete degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil inoculated with wood-rotting fungi and their effect on the indigenous soil bacteria // *Environ Toxicol Chem*. 2003. V. 22. P. 1238–1243.
- Asemaninejada A., Greg Thorna R., Branfireuna B.A., Lindoa Z.* Climate change favours specific fungal communities in boreal peatlands // *Soil Biology and Biochemistry*. 2018. V. 120. P. 28–36.
- Atanassova I., Brummer G.W.* Polycyclic aromatic hydrocarbons of anthropogenic and biopedogenic origin in a colluviated hydromorphic soil of Western Europe // *Geoderma*. 2004. V. 120. P. 27–34.
- Berset J.D., Kuehnea P., Shotykh W.* Concentrations and distribution of some polychlorinated biphenyls PCBs and polycyclic aromatic hydrocarbons PAHs in an ombrotrophic peat bog profile of Switzerland. *The Science of the Total Environment*. 2001. V. 267. P. 67–85.
- Bozkurt S., Lucisano M., Moreno L., Neretnieks I.* Peat as a potential analogue for the long-term evolution in landfills // *Earth-science reviews*. 2001. Т. 53. V. 1–2. P. 95–147.
- Brien L.O., Langlois P.H., Lawson C.C., Scheuerle A., Rocheleau C.M., Waters M.A., Symanski E., Romitti P.A., Agopian A.J., Lupo P.J.* Maternal Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Craniosynostosis among Offspring in the National Birth Defects Prevention Study // *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2016. V. 106. № 1. P. 55–60.
- Byss M., Elhottova D., Tliska J., Baldrian P.* Fungal bioremediation of the creosote-contaminated soil: Influence of *Pleurotus ostreatus* and *Irpex lacteus* on polycyclic aromatic hydrocarbons removal and soil microbial community composition in the laboratory-scale study // *Chemosphere*. 2008 V. 73. P. 1518–1523.
- Cao H., Wang C., Liu H., Jia W., Sun H.* Enzyme activities during Benzo[a] pyrene degradation by the fungus *Lasiodiplodia theobromae* isolated from a polluted soil // *Scientific reports*. 2020. № 10. P. 865.
- Canet R., Birnstingl J.G., Malcolm D.G., Lopez-Real J.M., Beck A.J.* Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by native microflora and combinations of white-rot fungi in a coal-tar contaminated soil // *Bioresour Technol*. 2001. V. 76. P. 113–117.
- Carvalho J.V.S., Mendonc E.S., Barbosa R.T., Reis E.Z., Seabr P.N., Schaefer C.E.G.R.* Impact of expected global warming on C mineralization in maritime Antarctic soils: results of laboratory experiments // *Antarctic Science*. 2010. V. 22. № 5. P. 485–493.
- Carvalho J.V.S., Mendonc E.S., Scala J.R.N., Reis C., Reis E.Z., Schaefer C.E.G.R.* CO₂-C losses and carbon quality of selected Maritime Antarctic soils // *Antarctic Science*. 2013. V. 25. № 1. P. 11–18.
- Chen W., Wang H., Gao Q., Chen Y., Li S., Yang Y., Werner D., Tao S., Wang X.* Association of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons with humic acid and humin fractions in a peat soil and implications for their long-term retention // *Environ. Pollut*. 2017. V. 230. P. 882–890.
- Cheng Y., Kong S., Yan Q., Liu H., Wang W., Chen K., Yin Y., Zheng H., Wu J., Yao L., Zeng X., Zheng S., Wu F., Niu Z., Zhang Y., Yan Y., Zheng M., Qi S.* Size-segregated emission factors and health risks of PAHs from residential coal flaming/smoldering combustion // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*. 2019. V. 26. № 31. P. 31793–31803.
- DiDonato N., Chen H., Waggoner D., Hatcher P.G.* Potential origin and formation for molecular components of humic acids in soils // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 2016. V. 178. P. 210–222.
- Hamdia H., Benzarti S., Manusadzianasc L., Aoyamaa I., Jedidid N.* Bioaugmentation and biostimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions // *Soil Biology & Biochemistry*. V. 39. 2007. P. 1926–1935.
- Huang Z., Liers C., Ullrich R., Hofrichter M., Urynowicz M.* Depolymerization and solubilization of chemically pretreated powder river basin subbituminous coal by manganese peroxidase (MnP) from *Bjerkandera adusta* // *Fuel*. 2013. V. 112. P. 295–301.
- Grinhut T., Hadar Y., Chen Y.* Degradation and transformation of humic substances by saprotrophic fungi: processes and mechanisms // *Fungal biology reviews*. 2007. V. 21. P. 179–189.
- Janusza G., Kucharzykb K.H., Pawlika A., Staszczaka M., Paszczynskic A.J.* Fungal laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase: Gene expression and regulation // *Enzyme and Microbial Technology*. 2013. V. 52. P. 1–12.
- Li C., Gao S., Zhang J., Zhao L., Wang L.* Moisture Effect on Soil Humus Characteristics in a Laboratory Incubation Experiment // *Soil & Water Res*. 2016. V. 11. № 1. P. 37–43.
- Koschorreck K., Richter S.M., Swierczek A., Beifuss U., Schmid V.B., Urlacher R.D.* Comparative characterization of four laccases from *Trametes versicolor* concerning phenolic C–C coupling and oxidation of PAHs // *Arch. Biochem. Biophys*. 2008. V. 474. № 1. P. 213–219.
- Minkina T., Sushkova S., Yadav B.K., Rajput V., Mandzhieva S., Nazarenko O.* Accumulation and transformation of benzo[a]pyrene in Haplic Chernozem under artificial

- contamination // *Environ Geochem Health*. 2020. V. 42. № 8. P. 2485–2494.
- Novotny C., Svobodova K., Erbanova P., Cajthaml T., Kasinath A., Lang E., Sasek V. Ligninolytic fungi in bioremediation: extracellular enzyme production and degradation rate // *Soil Biol Biochem*. 2004. V. 36. P. 1545–1551.
- O'Brien M., Hashimoto T., Senda A., Nishida T., Takahashi J. The impact of *Lactobacillus plantarum* TUA1490L supernatant on *in vitro* rumen methanogenesis and fermentation // *Anaerobe*. 2013. V. 22. P. 137–140.
- Ren A. Environmental Pollutants and Neural Tube Defects // *Reproductive and Developmental Toxicology* (Second Edition). 2017. V. 61. P. 1139–1166.
- Thuens S., Blodau C., Radke M. How suitable are peat cores to study historical deposition of PAHs // *Science of the Total Environment*. 2013. V. 450–451. P. 271–279.
- Treseder K.K., Marusenko Y., Romero-Olivares A.L., Maltz M.R. Experimental warming alters potential function of the fungal community in boreal forest // *Glob Chang Biol*. 2016. V. 22. № 10. P. 3395–404.
- Sihi D., Ingletta P.W., Inglett K.S. Warming rate drives microbial nutrient demand and enzyme expression during peat decomposition // *Geoderma*. 2019. V. 336. P. 12–21.
- Ukalska-Jaruga A., Smreczak B., Klimkowicz-Pawlas A. Soil organic matter composition as a factor affecting the accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons // *J. Soils Sedim*. 2019. V. 19. № 4. P. 1890–1900.
- Vasconcelos U., de França F.P., Oliveira F.J.S. Removal of high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons // *Quim. Nova*. 2011. V. 34. № 2. P. 218–221.
- Wang Z., Liu S., Bu Z.-J., Wang S. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) during Sphagnum litters decay // *Environm. Sci. Pollut. Res*. 2018. V. 25. P. 18642–18650.
- Wilcke W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil – a review // *J. Plant Nutr. Soil Sci*. 2000. V. 163. P. 229–248.
- Yakovleva E.V., Gabov D.N. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in *Betula nana* (Betulaceae, Magnoliopsida) under Exposure to a Thermal Power Plant // *Biology Bulletin*. 2019. V. 46. № 10. P. 1415–1425.
- Yakovleva E.V., Gabov D.N., Vasilevich R.S., Goncharova N.N. Participation of Plants in the Formation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Peatlands // *Eurasian Soil Science*. 2020. V. 53. P. 317–329.

Temporal Changes in the Content of Polyarenes in Samples of Seasonally Thawed Layer from Tundra Peatlands During a Model Experiment

E. V. Yakovleva^{1, #} and D. N. Gabov¹

¹ *Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch, RAS, Kommunisticheskaya, 28, Syktyvkar, 167982 Russia*
#e-mail: kaleeva@ib.komisc.ru

We conducted a model experiment on decomposition of organic matter in peat collected from a seasonally thawed layer of a tundra peatland on the coast of the Barents Sea. The data obtained indicate a constant variation in the composition of polycyclic aromatic hydrocarbons during the experiment. The changes in the content of polycyclic aromatic hydrocarbons can be described by a sinusoidal curve with several maxima and minima. We suggest that the presence of extrema in the content of polycyclic aromatic hydrocarbons and the recombination of their composition during the experiment is explained by the fact that, in the absence of easily accessible for decomposition light hydrocarbons, microorganisms began to decompose heavier structures, and then, with a decrease in their content, high-molecular-weight organic substances of peat. To confirm the obtained results, we plan to carry out additional studies of the enzymatic activity of soils.

Keywords: Model experiment, peatlands, organic matter, polycyclic aromatic hydrocarbons, decomposition